昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*, August 2005, 48(4):509 – 513 ISSN 0454-6296

两种蚜茧蜂及其寄主蚜虫对大豆植株挥发性次生物质的触角电位反应

严福顺,阎云花,张 瑛,侯照远,王琛柱

(中国科学院动物研究所,农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室,北京 100080)

摘要:研究了下列害虫和寄生天敌种类对大豆植株中提取的某些挥发性次生化合物及其不同组合混合相的触角电位反应:1)豆蚜 *Aphis craccivora* Koch 和麦长管蚜 *Macrosiphum avenae* (Fabricius);2)为害大豆植株的大豆蚜 *Aphis glycines* Matsumura 和不为害大豆植株的豆蚜二者所共有的寄生天敌豆柄瘤蚜茧蜂 *Lysiphlebus fabarum* Marshall;3)不为害大豆植株的麦长管蚜的寄生天敌燕麦蚜茧蜂 *Aphidius picipes* Nees。结果表明,与大豆植株相关联的大豆蚜和不相关联的豆蚜所共有的天敌——豆柄瘤蚜茧蜂,对大豆植株的挥发性次生化合物及其混合相反应敏感,而与大豆植株不相关联的豆蚜、麦长管蚜及其寄生天敌——燕麦蚜茧蜂,对大豆植株的挥发性次生化合物及其混合相反应不敏感。再次证明,植物挥发性次生化合物在害虫及其寄生天敌搜寻寄主的过程中起到重要的作用。

关键词:豆柄瘤蚜茧蜂;燕麦蚜茧蜂;植物挥发性次生化合物;寄主搜寻;触角电位

中图分类号:Q965 **文献标识码**:A **文章编号**:0454-6296(2005)04-0509-05

Electroantennogram responses of two parasitoid wasps and their host aphids to volatiles from soybean plants

YAN Fu-Shun, YAN Yun-Hua, ZHANG Ying, HOU Zhao-Yuan, WANG Chen-Zhu (State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract: Electroantennogram (EAG) responses to several chemical volatiles of soybean plant were investigated for the following four species of insects: 1) *Aphis craccivora* Koch and *Macrosiphum avenae* (Fabricius); 2) *Lysiphlebus fabarum* Marshall, the common nature enemy of *Aphis glycines* Matsumura which is the pest insect of soybean plant, and of *A. craccivora* which is not the pest insect of soybean plant; 3) *Aphidius picipes* Nees, the nature enemy of *M. avenae* which is not the pest insect of soybean plant. The results showed that *L. fabarum* related indirectly with soybean plant in nature was sensitive to the tested volatiles and their mixtures; the rest three species of insects irrelative to soybean plants in nature were not sensitive to the volatiles and their mixtures. This suggested the important function of plant volatiles in host searching of natural enemies of the phytophagous.

Key words: *Lysiphlebus fabarum*; *Aphidius picipes*; soybean plant volatiles; host searching; electroantennogram

害虫和寄生天敌如何准确无误地找到它们的寄主,这是应用昆虫学家长期来很感兴趣的问题。早期的观点偏向于昆虫的视觉功能,但近二、三十年来,认为嗅觉功能起着很重要的作用(Du *et al.*, 1996; Potting *et al.*, 1999; Reddy *et al.*, 2002; Birkett *et al.*, 2003; Fraser *et al.*, 2003)。对于寄生天敌来说,一般认为寄主害虫挥发出来的气味是它们寻找寄主最可靠的信息,但这种信息量微,扩散的范围有限,寄生天敌往往不太可能在远距离上感觉得到,而寄主害虫的寄主植物所释放的挥发性次生物质相对来说释放的数量要比害虫本身释放的次生物质的量要大得多,分布的范围也大,是寄生天敌预感寄主害虫可能存在的可靠信息(Turlings *et al.*, 1990;杜永均和严福顺,1994)。这是寄生天敌在自然选择和与植物协同进化过程中所保留下来的一种本能,使天敌能顺利找到它的寄主害虫而延续世代。

过去,我们已经研究过大豆植株挥发性次生化合物在大豆蚜 *Aphis glycines* Matsumura 寻找寄主过程中的作用,证明了前者对后者的重要性(杜永均和严福顺,1994)。在上述研究的基础上,对为害大豆

基金项目:国家自然科学基金重点项目(30330100);国家自然科学基金项目(39770127)

作者简介:严福顺,男,1937 年生,研究员,博士生导师,长期从事昆虫感觉与行为生理学研究, E-mail: yanfs@ioz.ac.cn

收稿日期 Received:2004-09-10;接受日期 Accepted:2004-10-14

植株的大豆蚜和不为害大豆植株的豆蚜 *Aphis craccivora* Koch 所共有的寄生天敌豆柄瘤蚜茧蜂 *Lysiphlebus fabarum* Matshall，以及不为害大豆植株的豆蚜和麦长管蚜 *Macrosiphum avenae*（Fabricius）及其寄生天敌燕麦蚜茧蜂 *Aphidius picipes* Nees，进行了对大豆植株挥发性次生物质的触角电位（EAG）反应研究，以期从与大豆植株有关和无关的几种昆虫对大豆挥发性次生化合物的反应程度上，来进一步证明植物挥发性次生物质在害虫及其天敌搜寻寄主的过程中可能所起的作用。

1 材料与方法

1.1 实验用昆虫

豆柄瘤蚜茧蜂采自京郊农田大豆植株上大豆蚜僵蚜，在试管中羽化后，挑选出所需蜂种，用大豆蚜和豆蚜于室内饲养。燕麦蚜茧蜂采自本所实验田小麦上的僵蚜，在试管中羽化，鉴定后用于实验。豆蚜于春季采自本组实验田中的蚕豆上。麦长管蚜于春季采自本所实验田的小麦上。

1.2 实验用挥发性次生化合物和化学试剂

大豆植株挥发性次生化合物的成分系根据前人（Liu *et al*.，1989；杜永均，1992；Turlings *et al*.，1993 张瑛，1997）研究发现的成分中选取 4 种，它们是 顺三己烯醇（*cis*-hexen-3-ol-1），顺三己烯基乙酸酯（*cis*-hexen-3-ylacetate），反二己烯醛（*trans*-2-hexen-1-al）和吲哚（indole）。实验用的次生物质标样购自 Roth 和 Fluka 两公司，为 95% ~ 99% 纯品。样品溶剂石蜡油（paraffin oil）系 Fluka 公司产品。配制 Kaissling 溶液所用的葡萄糖、氯化钾、磷酸二氢钾、氯化钙、氯化钠、氯化镁和氢氧化钾均为北京化学试剂厂分析纯产品。

1.3 触角电位测试方法

昆虫触角电位研究在参考国内外经典方法基础上，根据多年积累的实践经验进行了改进。将被测试昆虫头部切下，去除一条触角。将留用的那条触角切去顶端，连头部一起架于橡皮泥支架上备用。在实体显微镜下，借助于微动操作仪，将已放入 Kaissling 溶液和银丝电极的参比玻璃微电极刺入触角的基部、记录玻璃微电极套入已切去顶端的触角的端部。玻璃微电极用垂直毛细管拉制器（KOPF 220）拉成。毛细管的内径为 1.3 mm，外径 2 mm。作参比电极用的玻璃微电极切去顶端少许，并使之非常尖锐；而作记录电极用的玻璃微电极，顶端切去略多，且切口部分平光，使易于套入触角的顶端。Kaissling 溶液的成分和浓度是：葡萄糖 354 mmol/L，氯化钾 6.4 mmol/L，磷酸二氢钾 20 mmol/L，氯化钙 1 mmol/L，氯化钠 12 mmol/L，氯化镁 12 mmol/L，氢氧化钾 9.6 mmol/L，最后调 pH 值为 6.5。银丝电极的直径为 0.2 mm。为了防止银丝在溶液中产生电解电位而影响测定的数据，对银丝电极作了预处理，制成 Ag-AgCl 电极，方法是用 0 号砂纸轻轻磨去银丝表面的脏物或氧化层，用丙酮棉球擦净、吹干后，插入 0.1 mol/L 盐酸溶液中，在两银丝间加 4.5 V 直流电压进行电解，每经 30 s，两银丝互换正负极，共电解 90 s 制成 Ag-AgCl 电极，选其中曾 2 次连接到正极、最后具有金灰色外膜的那条作为记录电极，白色的那条作参照电极，用自来水冲去酸性即可用于实验。每记录 3 ~ 5 头虫子，将电极重作预处理一次。将参比银丝电极的另一端接地；记录电极的另一端连接到直流微电极放大器（SYNTECH Amplifier UN-06）、示波器（HAMEG HM-203-6）和记录仪（Gould Recorder 220）上。实验中，为了减慢被测试标样化学物的挥发，每种被测试化合物都溶于石蜡油中，用振荡混合器充分振匀，浓度为 0.1 mol/L，每次吸 25 μL 振匀的溶液均匀地滴加于 6 cm × 0.5 cm、纵向折弯成约 120 度的滤纸片上，并将后者放入滴管中。滴管的粗端连接具有控制按钮的气流刺激仪；细端插入具有约 80 mL/min 流速、先后经活性炭和水浴过滤的连续空气流的主玻璃管壁上的小孔中。将主玻璃管的弯头出气口对准距触角约 2 cm 远处进行连续微吹。按动刺激仪，以瞬间的小气流使加于滤纸片上的标样挥发物混入主玻璃管的连续气流而刺激触角感受器。控制每次刺激时间为 0.2 s，两次刺激的时间间隔不少于 30 s。所有触角电位测定实验在边长为 90 cm 的 4 壁屏蔽罩内进行，操作人员身前挡有可移去的屏蔽网。

1.4 实验数据的采集和处理

由于在整个实验的过程中，触角渐趋死亡，反应会逐渐减弱，以致数据分散，所以对测试化合物的 EAG 反应值用对标准化合物的 EAG 反应值的百分比来表示。也就是一种被测试化合物对触角的刺激，总是和标准化合物的刺激相间进行，而后用被测试化合物刺激所得的数据与这一次刺激前后各一次标准化合物刺激的平均数之比百分数，作为这种化合物这一次刺激的效果。根据预备实验的结果，选取顺二己烯醇（*cis*-hexen-2-ol-1）为标准化合物。每种挥发性次生化合物对 4 种实验昆虫至少各重复 6

头，每头重复刺激 3 次，而后将获得的数据以 t 检验方法（Snedecor，1959）进行生物统计，求取平均值和置信区间，进行比较和讨论。

2　结果与分析

用大豆植株挥发性次生化合物的单一成分以及几种混合相，对豆蚜、豆柄瘤蚜茧蜂、麦长管蚜和燕麦蚜茧蜂进行触角电位研究结果用图表示如下。对 4 种昆虫的反应进行两两比较研究后发现：

1）豆蚜和豆柄瘤蚜茧蜂对大豆植株挥发性次生化合物 4 种成分中的 1 号、2 号和 3 号 3 种成分的 EAG 反应没有显著差异，而对 4 号和另外 5 组混合相的反应差异非常显著（$P = 0.01$）（图 1）。

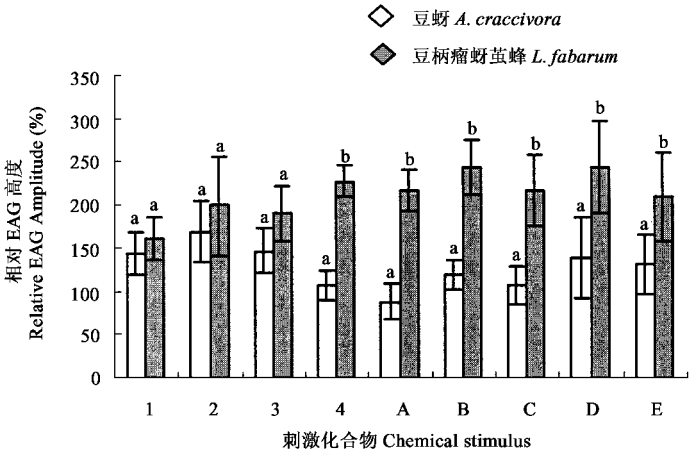

图 1　豆蚜和豆柄瘤蚜茧蜂对大豆植株挥发性次生化合物的相对触角电位振幅（平均值 ± 置信区间）（%）

Fig. 1　Relative EAG amplitude of *Aphis craccivora* and *Lysiphlebus fabarum* to volatiles from soybean plant (mean ± confidence interval) (%)

柱顶部字母相同表示同一柱内差异不显著（t**-检验，**$n = 6$**，**$P > 0.05$**）.** Same letter shows no significant difference within the same cube (t-test, $n = 6$, $P > 0.05$). **刺激化合物种类** Chemical stimulus (0.1 mol/L)：1：*cis*-hexen-3-ol-1；2：*cis*-hexen-3-ylacetate；3：*trans*-2-hexen-1-al；4：indole；A：*cis*-hexen-3-ol-1 + indole；B：*cis*-hexen-3-ylacete + indole；C：*trans*-2-hexen-1-al + indole；D：*cis*-hexen-3-ol-1 + *cis*-hexen-3-ylacete + *trans*-2-hexen-1-al；E：*cis*-hexen-3-ol-1 + *cis*-hexen-3-ylacete + *trans*-2-hexen-1-al + indole；**标准化合物** Standard chemical stimulus：*cis*-hexen-2-ol-1. **图 2 ~ 4 同** The same for Figs. 2 – 4.

2）麦长管蚜和燕麦蚜茧蜂对大豆挥发性次生化合物 4 种成分中的 1 号和 4 号化合物的 EAG 反应差异显著（t-检验，P 分别为 0.05 和 0.01），对混合相 A 组和 B 组的 EAG 反应差异显著（P 为 0.05），对其他几种化合物刺激的反应 2 种昆虫之间没有显著差异（图 2）。

3）豆蚜和麦长管蚜 2 种蚜虫对大豆植株挥发性次生化合物的 EAG 反应差异也很明显：9 种刺激相中，除了 1 号、2 号、3 号和混合相 D 组外，其余都有显著差异，其中混合相 B 组的差异极其显著（$P = 0.01$）（图 3）。

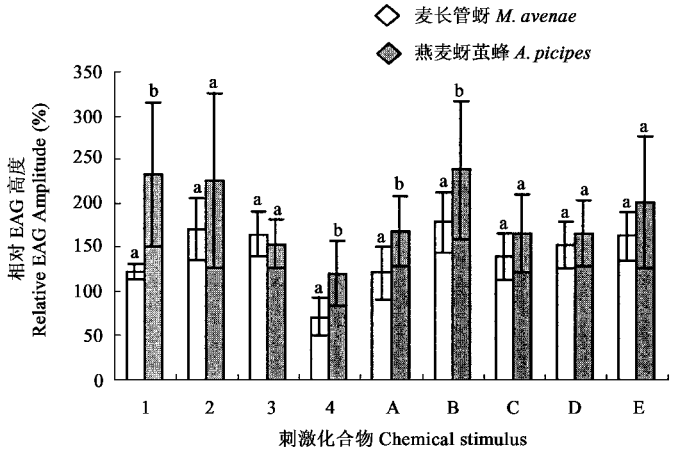

图 2　麦长管蚜和燕麦蚜茧蜂对大豆植株挥发性次生化合物的相对触角电位振幅（%）

Fig. 2　Relative EAG amplitude of *Macrosiphum avenae* and *Aphidius picipes* to volatiles from soybean plant (%)

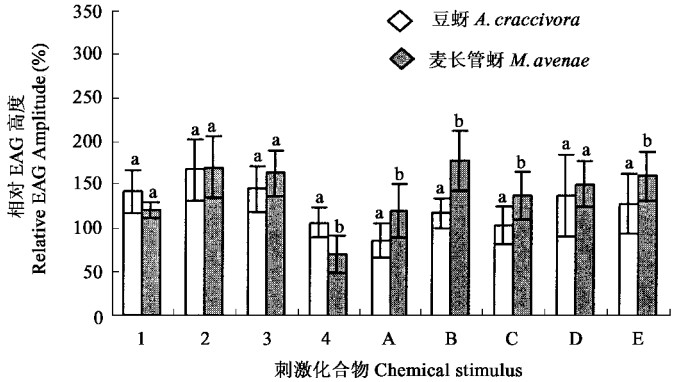

图 3 豆蚜和麦长管蚜对大豆植株挥发性次生化合物的相对触角电位振幅(%)

Fig. 3 Relative EAG amplitude of *A. craccivora* and *M. avenae* to volatiles from soybean plant (%)

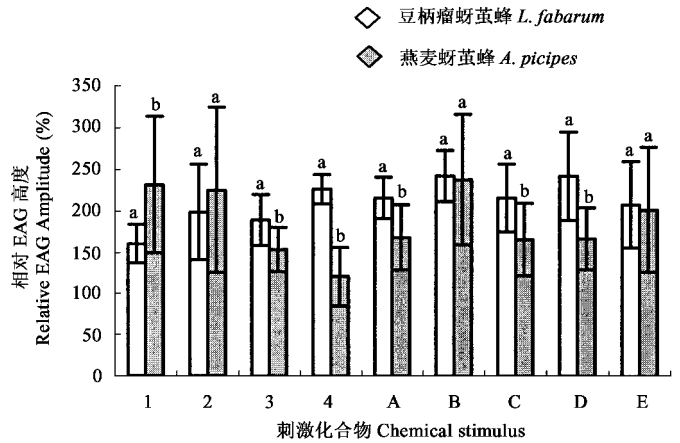

图 4 豆柄瘤蚜茧蜂和燕麦蚜茧蜂对大豆挥发性次生化合物的相对触角电位振幅(%)

Fig. 4 Relative EAG amplitude of *L. fabarum* and *A. picipes* to volatiles from soybean plant (%)

4) 豆柄瘤蚜茧蜂和燕麦蚜茧蜂 2 种天敌的 EAG 反应也有明显差异,9 种刺激物中只有 2 号和混合相 B 组与 E 组 3 种刺激相所引起的反应没有差异(图 4)。

从图 1 ~ 4 可明显地看出,2 种蚜茧蜂的 EAG 反应强度普遍高于其寄主蚜虫。

3 讨论

豆蚜和豆柄瘤蚜茧蜂对大豆植株挥发性次生物质 9 种刺激物中的三分之二有极其显著的差异,说明大豆挥发性次生物质对二者具有极其不同的意义。豆柄瘤蚜茧蜂既能以大豆蚜为寄主,又能以豆蚜为寄主,所以大豆植株挥发性次生物质对它也有特殊含义,表示这里很可能有大豆蚜在活动,因为大豆蚜是大豆的主要害虫(张广学和钟铁森, 1993)。由于同一植物受不同植食性昆虫为害所诱导产生的植物挥发性次生化合物的差异不明显(Turlings *et al*., 1995),而且主要是数量上的变化(Takabayashi *et al*., 1991),所以大豆植株挥发性次生物质对豆柄瘤蚜茧蜂来说,要比一般的绿叶气味有更多与寄主有关的信息。豆蚜是蚕豆、苕子、苜蓿、豇豆和菜豆的重要害虫(张广学和钟铁森, 1993),田间大豆上几乎就没有豆蚜的无翅蚜寄生,所以,大豆不是它的食料,豆蚜自然对大豆的气味"不感兴趣"。豆蚜对大豆植株挥发性次生物质的 EAG 反应跟豆柄瘤蚜茧蜂来比要低得多,这与田间观察到的现象是一致的。

此外,豆蚜和豆柄瘤蚜茧蜂二者 EAG 反应有差异的刺激物主要集中于大豆植株挥发性次生物质的 5 种混合相(图 1)上,其原因可能与二者对化学信息进行编码、传递的过程有关。化学信息在感觉神经末梢被转换成神经电信号,在从外周神经系统向中枢神经系统传递的过程中进行整合编码,最后由大脑破译密码后作出是否产生行为反应的判断。de Jong 和 Visser 认为,克罗拉多马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* Say 的触角叶有两种嗅觉信息处理通道:一种用于检测植物气味的成分,另一种用于判断其中各成分的比率(de Jong and Visser, 1988a, 1988b)。如果豆蚜和豆柄瘤蚜茧蜂也具有与之相似的嗅觉信息处理机制,那么我们也可以试着

来解释二者 EAG 反应的差异为何集中于大豆植株挥发性次生物质的混合相：二者都能检测到大豆植株挥发性次生物质中的各种成分，但是，二者对其中各成分的比例的判断却相距甚远，导致它们对同样的信息物质产生不同的‘理解’。

麦长管蚜和燕麦蚜茧蜂对大豆植株挥发性次生化合物 9 种刺激物的反应中，有差异的不到一半，说明二者识别的气味图谱有很多相近之处，至少它们对大豆植株都不十分敏感，因为大豆不是麦长管蚜的食料，燕麦蚜茧蜂也不能在大豆植株上找到可以产卵的麦长管蚜。

豆蚜和麦长管蚜 EAG 反应的差异，以及两种蚜茧蜂的 EAG 反应的差异也同样说明，它们可识别不同的化学指纹图谱。从这个意义上说，植物释放的挥发性次生物质对致害昆虫的天敌有一定的特异性，这是在昆虫与植物的长期协同进化过程中形成的。

致谢　承蒙同实验室宗娜博士和王鸿雷博士绘制插图。

参 考 文 献 (References)

Birkett MA, Chamberlain K, Guerrieri E, Pickett JA, Wadhams LJ, Yasuda T, 2003. Volatiles from whitefly-infested plants elicit a host-locating response in the parasitoid, *Encarrsia formosa*. *J. Chem. Ecol.*, 29(7): 1 589 – 1 600.

de Jong R, Visser JH, 1988a. Integration of olfactory information in the Colorado potato beetle brain. *Brain Research*, 447(1): 10 – 17.

de Jong R, Visser JH, 1988b. Specificity related suppression of responses to binary mixtures in olfactory receptors of the Colorado potato beetle. *Brain Research*, 447(1): 18 – 24.

Du YJ, Poppy GM, Powell W, 1996. Relative importance of semiochemicals from first and second trophic levels in host foraging behavior of *Aphidius ervi*. *J. Chem. Ecol.*, 22: 1 591 – 1 605.

Du YJ, Yan FS, 1994. The role of plant volatles in tritrophic interactions among phytophagous insects, their host plants and natural enemies. *Acta Entomol. Sin.*, 37(2): 233 – 250. [杜永均，严福顺，1994. 植物挥发性次生物质在植食性昆虫、寄主植物和昆虫天敌关系中的作用机理. 昆虫学报，37(2)：233 – 250]

Du YJ, Yan FS, Han XL, Tang J, 1994. Olfaction in host plant selection of the soybean aphid, *Aphis glycines*. *Acta Entomol. Sin.*, 37(4): 385 – 392. [杜永均，严福顺，韩心丽，唐觉，1994. 大豆蚜嗅觉在选择寄主植物中的作用. 昆虫学报，37(4)：385 – 392]

Du YJ, 1992. Physiological Mechanisms of Host Selection Behavior of Soybean Aphid, *Aphis glycines*: The Functions of Plant Volatiles Among Soybean Aphid, Its Host Plants and Natural Enemy. PhD Thesis, Zhejiang Agricultural University. [杜永均，1992. 大豆蚜 *Aphis glycines* 选择寄主植物的行为生理——植物挥发性次生物质在大豆蚜、寄主植物和自然天敌三重关系中的作用. 浙江农业大学博士论文]

Fraser AM, Mechaber WL, Hildebrand JG, 2003. Electroantennographic and behavioral responses of the sphinx moth *Manduca sexta* to host plant headspace volatiles. *J. Chem. Ecol.*, 29(8): 1 813 – 1 833.

Liu SH, Norris DM, Lyne P, 1989. Volatiles from the foliage of soybean, *Glycine max*, and lima bean, *Phaseolus lunatus*: their behavioral effects on the insects *Trichoplusia ni* and *Epilachna varivestis*. *J. Agric. Food Chem.*, 37: 496 – 501.

Potting RPJ, Poppy GM, Schuler TH, 1999. The role of volatiles from cruciferous plants and pre-flight experience in the foraging behaviour of the specialist parasitoid *Cotesia plutellae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 91: 143 – 148.

Reddy GV, Holopaine JK, Guerrero A, 2002. Olfactory responses of *Plutella xylostella* natural enemies to host pheromone, larval frass, and green leaf cabbage volatiles. *J. Chem. Ecol.*, 28(1): 131 – 143.

Snedecor GW, 1959. Statistical Methods (Applied to Experiments in Agriculture and Biology). The Iowa State College Press. [G. W. 斯奈迪格著，杨纪珂，汪安琦译，1963. 应用于农学和生物学实验的数理统计方法. 科学出版社. 609 页]

Takabayashi J, Dicke M, Posthumus MA, 1991. Variation in composition of predator-attracting allelochemicals emitted by herbivore-infested plants relative influence of plant and herbivore. *Chemoecology*, 2: 1 – 6.

Turlings TCJ, Loughrin JH, McCall PJ, Rose US, Lewis WJ, Tumlinson JH, 1995. How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92(10): 4 169 – 4 174.

Turlings TCJ, Tumlinson JH, Lewis WJ, 1990. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science*, 250: 1 251 – 1 253.

Turlings TCJ, Wackers FL, Vet LEM, Lewis WJ, Tumlinson JH, 1993. Learning of host-finding cues by hymenopterous parasitoids. In: Papaj DR, Lewis CA eds. Insect Learning: Ecology and Evolutionary Perspectives. Routledge, Chapman & Hall, New York. 51 – 78.

Zhang GX, Zhong TS, 1993. Economic Insect Fauna of China. No. 25. Beijing: Science Press. 387. [张广学，钟铁森，1993. 中国经济昆虫志. 第 25 册. 北京 科学出版社. 387]

Zhang Y, 1997. The Effects of Soybean Volatiles Induced by Aphid Feeding to *Lysiphlebus fabarum* and Its Host Aphid, *Aphis glycines*. MSc Thesis, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences. [张瑛，1997. 蚜害诱导的大豆挥发性次生物质对豆柄瘤蚜茧蜂 *Lysiphlebus fabarum* 及其寄主大豆蚜 *Aphis glycines* 的影响. 中国科学院动物研究所硕士学位论文]

(责任编辑：袁德成)